



BÜHLMANN fPELA[®] turbo

Turbidimetrický test pankreatické elastázy
pro profesionální použití

Reagenční souprava

B-KPELA-RSET
Verze A2

Pro *In Vitro* diagnostiku



Výrobce

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Švýcarsko

Tel.: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

POUŽITÍ TESTU

BÜHLMANN fPELA[®] turbo je *in vitro* diagnostický test pro kvantitativní stanovení pankreatické elastázy v extraktech lidské stolice. Výsledky lze použít jako pomůcku pro stanovení exokrinní pankreatické insuficience u pacientů trpících stavů jako je chronická pankreatitida a cystická fibróza, ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými nálezy. Test BÜHLMANN fPELA[®] turbo je určen k provádění na analyzátoch klinické chemie. Pouze pro laboratorní použití.

PRINCIP ANALÝZY

Test BÜHLMANN fPELA® turbo je turbidimetrická imunoanalýza se zvýšeným obsahem částic (PETIA) a umožňuje automatickou kvantifikaci pankreatické elastázy ve fekálních extraktech na analyzátorech klinické chemie. Vzorky stolice se extrahují extrakčním pufrem pomocí CALEX® Cap extrakčního zařízení a použijí se v konečném ředění 1:500. Extrakty se inkubují s reakčním pufrem a smíchají se s polystyrenovými nanočásticemi potaženými protilátkami specifickými pro pankreatickou elastázu (imunočástice). Pankreatická elastáza, dostupná ve vzorku, zprostředkovává aglutinaci imunočástic. Zákal vzorku, měřený pomocí světelné absorbance, se zvyšuje s tvorbou komplexu pankreatická elastáza-imunočástice a je úměrný koncentraci pankreatické elastázy. Zjištěná světelná absorbance umožňuje kvantifikaci koncentrace pankreatické elastázy pomocí interpolace na stanovené kalibrační křivce.

DODÁVANÉ REAGENCIE

Reagencie	Množství	Kat.č.	Stav
Reakční pufr (R1) MES pufrový roztok	1 vialka 27.0 mL	B-KPELA-R1	Připraveno k použití
Imunočástice (R2) Polystyrenové nanočástice potažené králičími protilátkami proti lidské pankreatické elastáze	1 vialka 5.1 mL	B-KPELA-R2	Připraveno k použití

Tabulka 1: Reagencie dodávané

SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Neotevřené reagencie
Skladujte při 2-8°C. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby expirace.
Stabilita po otevření¹
Skladujte až 3 měsíce (91 dní) při 5-12°C

Tabulka 2: Skladování a stabilita reagensů.

Reagencie nezmrazovat!

¹ Stabilita po otevření byla stanovena pomocí přístroje Roche cobas® 6000 c501

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Reagencie	Množství	Kat.č.
BÜHLMANN fPELA® turbo Calibrator Kit Kalibrátory 1-6 pro stanovení šestibodové kalibrační křivky	1 x 6 vialek 1 mL/vialku	B-KPELA-CASET
BÜHLMANN fPELA® turbo Control Kit Kontroly nízká a vysoká	3 x 2 vialky 1 mL/vialku	B-KPELA-CONSET
CALEX® Cap zařízení Extrakční zařízení naplněné extrakčním pufrem	50 zkumavek 200 zkumavek 500 zkumavek	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500

Tabulka 3: Potřebný, ale nedodávaný materiál

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Tento test je určen pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Tato souprava obsahuje složky klasifikované podle nařízení (ES) č. 1272/2008: 2-methyl-2-isothiazolin-3-on (konc. $\geq 0,0015$ %), proto mohou reagencie způsobit alergické kožní reakce (H317).
- Zabraňte kontaktu reagensů s kůží, očima nebo sliznicemi. Dojde-li ke kontaktu, okamžitě je omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k podráždění.
- Doporučuje se, aby test prováděl kvalifikovaný personál v souladu se správnou laboratorní praxí (SLP).
- Imunočástice obsahují potenciálně infekční látky živočišného původu a mělo by se s nimi zacházet opatrně. Likvidace všech vyřazených materiálů by měla být v souladu s místními požadavky.
- R1 obsahuje MES (kyselinu 2-(N-morfolino)etansulfonovou), která může dráždit oči a pokožku. Zacházejte s ním opatrně.
- R2 obsahuje polystyrenové nanočástice.
- Nepoužitý roztok by měl být zlikvidován v souladu s národními předpisy.

Technická opatření

- Vytemperujte reagencie, kontroly, kalibrátory a vzorky podle popisu v aplikační poznámce.

- Odpařování kalibrátorů a kontrol na analyzátoru by mohlo vést k nesprávným výsledkům. Analýzu provádějte ihned po vložení analyzátoru.
- Odpařování kalibrátorů a kontrol na analyzátoru by mohlo vést k nesprávným výsledkům. Analýzu provádějte ihned po vložení analyzátoru.
- Nemíchejte reagenty R1 a R2 z různých šarží ani nezaměňujte uzávěry mezi reagenty.
- Jednou zmrazenou reagent R2 již nepoužívejte.
- Test je určen pro vzorky fekálního extraktu připravené pomocí speciálního zařízení BÜHLMANN CALEX® Cap.
- Před provedením testu se ujistěte, že vzorky neobsahují bublinky.
- Přenos vzorku závisí na analyzátoru klinické chemie. Další informace naleznete v aplikační poznámce k analyzátoru.

ODBĚR VZORKU A SKLADOVÁNÍ

Pro extrakční postup je zapotřebí méně než 1 g nativního vzorku stolice. Odeberte vzorek stolice do čistých zkumavek.

Důležité: Vzorek musí být odebrán bez jakýchkoli chemických nebo biologických přísad.

Přeprava a skladování vzorků

Vzorky stolice by měly být v laboratoři zpracovány do 6 dnů od odběru. Vzorky stolice mohou být přepravovány a skladovány při pokojové teplotě (do 28 °C) nebo v chladu. Pro delší skladování vzorky zmrazte při -20 °C. Více než 2 cykly zmrazení a rozmrazení se nedoporučují.

EXTRAKCE VZORKU A JEHO SKLADOVÁNÍ

Tekuté vzorky stolice nelze měřit pomocí testu BÜHLMANN fPELA® turbo (viz část "Omezení").

Postupujte podle návodu k použití dodaného se sadou CALEX® Cap. Extrakty vzorků stolice připravené pomocí zařízení CALEX® Cap budou mít konečné ředění 1:500 a jsou připraveny k použití.

Důležité: Před odstředěním a následným měřením nechte extrakt stolice alespoň hodinu odstát.

Důležité: Vzorky centrifugujte v zařízení CALEX® Cap po dobu 10 minut při 1000-3000 x g před provedením testu na BÜHLMANN fPELA® turbo.

Extrakty pankreatické elastázy získané pomocí přístroje CALEX® Cap jsou stabilní při pokojové teplotě ($\leq 28^{\circ}\text{C}$) po dobu 8 dní; při 2-8°C po dobu 12 dní a při -20°C minimálně 24 měsíců.

CALEX® Cap extrakty lze zmrazit a skladovat v přístroji CALEX® Cap. Extrakty lze podrobit pěti cyklům zmrazování a rozmrazování. Před měřením nechte zmražené extrakty vyrovnat na pokojovou teplotu, důkladně je 10 sekund vortexujte a odstředte podle návodu k použití testu.

POSTUP TESTU

Aplikační poznámky / instalace

Postupy analýzy pro BÜHLMANN fPELA® turbo byly stanoveny na několika analyzátorech klinické chemie. Ověřené aplikační poznámky popisující instalaci a analýzu na konkrétních přístrojích jsou na vyžádání k dispozici u společnosti BÜHLMANN. Pro nastavení přístroje, údržbu, obsluhu a bezpečnostní opatření je třeba vzít v úvahu příslušné příručky k přístroji.

Příprava reagensí

Dodávané reagensie jsou připraveny k použití. Před vložením do přístroje je jemně promíchejte. Lahvičky s reagensii lze umístit přímo do přístroje, pokud není v aplikační poznámce uvedeno jinak.

Stanovení kalibrační křivky

Kalibrační souprava BÜHLMANN fPELA® turbo se používá k sestavení šestibodové kalibrační křivky podle návodu k obsluze přístroje. Hodnoty kalibrátoru jsou specifické pro danou šarži. Pro každou novou šarži kalibrátoru a reagensie je třeba provést novou kalibraci. Jinak je třeba provádět pravidelné kalibrace každý jeden až dva měsíce podle aplikačních poznámek ke konkrétnímu přístroji. Hodnoty přiřazených kalibrátorů naleznete v listu s údaji o kontrole kvality dodaném se sadou kalibrátorů BÜHLMANN fPELA® turbo. Pokud nelze kalibraci provést bezchybně, kontaktujte podporu společnosti BÜHLMANN.

QC kontroly

Kontrolní souprava BÜHLMANN fPELA® turbo by měla být testována každý den před provedením extraktu vzorku stolice pacienta, aby se ověřila kalibrační křivka. Kontroly mají přiřazené rozsahy hodnot uvedené na listu s údaji o kontrole kvality dodávaném s každou šarží sady BÜHLMANN fPELA® turbo. Aby bylo možné získat platné výsledky pro extrakty vzorků stolice pacientů, musí být kontrolní měření v uvedených rozmezích hodnot.

Pokud kontrolní hodnoty nejsou platné, opakujte měření s novými kontrolními prvky. Pokud kontrolní hodnoty zůstávají neplatné, proveďte recalibraci testu. Jestliže se po provedení výše popsaných kroků nepodaří obnovit platné kontrolní hodnoty, obraťte se na podporu společnosti BÜHLMANN.

Měření extraktu vzorku stolice pacienta

Po stanovení kalibrační křivky a její validaci pomocí kontrol lze měřit extrakty stolice pacienta. Měření fekálního extraktu pacienta proveďte podle aplikační poznámky a návodu k přístroji.

Výsledky

Výsledky se vypočítávají automaticky na analyzátoru klinické chemie a uvádějí se v $\mu\text{g/g}$, pokud není v příslušných aplikačních poznámkách k analyzátoru uvedeno jinak.

STANDARDIZACE

BÜHLMANN fPELA[®] turbo je standardizován podle interního referenčního materiálu.

OMEZENÍ

- Vysoký obsah vody ve vzorku stolice (tekuté vzorky stolice) vede k podhodnocení koncentrace fekální pankreatické elastázy. Doporučuje se odběr vzorku stolice v jiný den.
- Výsledky testů by měly být interpretovány ve spojení s informacemi dostupnými z klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.
- Riziko falešně negativní diagnózy je vyšší u pacientů s mírnou a středně těžkou insuficiencí ve srovnání s pacienty s těžkou insuficiencí (1). Využitelnost vyšetření fekální pankreatické elastázy je u pacientů s diabetem omezená (viz 2, 3).
- Interferenční studie vykazují pozitivní odchylku 20% u vzorků obsahujících pankreatin (Creon[®]), což odpovídá denní dávce 757,5 kU/den za předpokladu denní hmotnosti stolice 150 g. To je mírně pod maximální doporučenou dávkou 800 kU/den.
- Interferenční studie vykazují negativní odchylku 20 % u vzorků obsahujících lansoprazol, což odpovídá denní dávce 229,1 mg/den, za předpokladu denní hmotnosti stolice 150 g a vylučovacího faktoru lansoprazolu 64%. To je více než maximální doporučená dávka 180 mg/den.
- Interferenční studie vykazují negativní odchylku 20 % u vzorků obsahujících esomeprazol odpovídající denní dávce 266,7 mg/den. To je více než maximální doporučená dávka 160 mg/den.
- Interferenční studie vykazují negativní odchylku 20 % ve vzorcích

obsahujících omeprazol, což odpovídá denní dávce 285,0 mg/den. To je více než maximální doporučená dávka 120 mg/den.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Koncentrace fekální elastázy	Indikace
200 to >500 µg/g	Normální pankreatická funkce
<200 µg/g	Pankreatická nedostatečnost

Tabulka 4: Interpretace výsledků (viz. 1)

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Jedno sto dvacet osm (128) vzorků stolice zdravých dobrovolných dárců bylo měřeno pomocí 3 šarží BÜHLMANN fPELA® turbo. Byly získány následující výsledky:

Koncentrace fekální elastázy	Počet zdravých subjektů
200 to >500 µg/g	114
<200 µg/g	14

Tabulka 5: Očekávané hodnoty

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Pokud není uvedeno jinak, byly prezentované výkonnostní charakteristiky stanoveny na přístroji Roche cobas® 6000 c501. Výkonnostní charakteristiky jiných analyzátorů klinické chemie jsou uvedeny v aplikačních poznámkách.

Srovnání metod: BÜHLMANN fPELA® turbo vs ScheBo® Pancreatic Elastase 1™

Srovnávací studie metod byla provedena podle směrnice CLSI EP09-A3. Jedno sto osm (108) vzorků bylo měřeno za použití 3 šarží BÜHLMANN fPELA® turbo po dobu 4 dní. Průměrné referenční hodnoty s koncentracemi elastázy spadajícími do měřicího rozsahu 21,0-444,9 µg/g byly stanoveny pomocí 2 šarží (2 opakování na šarži) testu ScheBo® Pancreatic Elastase 1™. Zkreslení bylo stanoveno pomocí lineární regrese Passing- Bablokovy a Bland-Altmanovy analýzy.

Bland-Altmanova analýza			Passing-Bablokova regresní analýza			
Prům.odchylka (95% CI)	Nižší LoA (95% CI)	Vyšší LoA (95% CI)	Směrnice (95% CI)	Posunutí (95% CI)	Zkreslení při 200 µg/g (95% CI)	r
3.6% (-4.8%, 12.1%)	-83.0% (-97.4%, -68.5%)	90.2% (75.8%, 104.7%)	0.90 (0.80, 1.04)	13.7 (-3.0, 27.2)	-2.7% (-17.2%, 14.0%)	0.847

Reprodukovatelnost: 1.9-6.2% CV

Reprodukovatelnost byla stanovena podle pokynu CLSI EP05-A3 s použitím plánu studie 3 přístroje/šarže x 5 dní x 5 opakování a kritéria přijatelnosti 15% CV. Testování bylo provedeno na přístrojích Roche c501, Beckman Coulter AU480 a Mindray BS380. Bylo testováno šest (6) vzorků stolice.

ID	Prům. [µg/g]	n	V rámci běhu		Mezi dny		Mezi šaržemi/ přístroji		Celkem	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV
S1	78.8	75	1.6	2.1%	0.4	0.5%	1.1	1.4%	2.0	2.5%
S2	188.7	75	1.3	0.7%	0.7	0.3%	3.4	1.8%	3.7	1.9%
S3	284.3	75	1.6	0.6%	2.1	0.8%	10.2	3.6%	10.5	3.7%
S4	400.5	75	2.2	0.5%	1.7	0.4%	11.2	2.8%	11.6	2.9%
S5	912.3	75	21.6	2.4%	0.0	0.0%	52.7	5.8%	56.9	6.2%
S6	1998.6	75	23.8	1.2%	9.5	0.5%	67.4	3.4%	72.1	3.6%

Reprodukovatelnost: 0.6-1.9% CV

Přesnost v rámci laboratoře: 0.9-2.2% CV

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle směrnice CLSI EP05-A3 s použitím standardizovaného plánu studie 20 dní x 2 série x 2 opakování a kritéria přijatelnosti 10% CV. Bylo vyšetřeno šest (6) extraktů vzorků stolice.

ID	Prům. [µg/g]	n	V rámci běhu		Mezi dny		Mezi šaržemi/ přístroji		Celkem	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV
S1	77.0	80	1.5	1.9%	0.8	1.1%	0.0	0.0%	1.7	2.2%
S2	188.9	80	1.2	0.7%	1.3	0.7%	1.8	1.0%	2.6	1.4%
S3	273.0	80	2.1	0.8%	2.1	0.8%	1.8	0.7%	3.5	1.3%
S4	404.1	80	2.4	0.6%	1.4	0.4%	2.3	0.6%	3.6	0.9%
S5	946.6	80	9.1	1.0%	7.5	0.8%	7.9	0.8%	14.2	1.5%
S6	2046.0	80	11.8	0.6%	6.9	0.3%	21.5	1.1%	25.5	1.2%

Reprodukovatelnost extrakce – CALEX® Cap: 6.9%-13.8% CV

Reprodukovatelnost extrakce byla stanovena dle směrnice CLSI EP05-A3 s použitím studie 2 dny x 2 operátoři x 3 CALEX® Cap šarže x 3 extrakce x 2 replikáty. Bylo vyšetřeno (6) klinických vzorků.

ID	Prům. [µg/g]	n	V rámci extrakce		Mezi extrakcemi		Celková přesnost	
			SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV	SD [µg/g]	%CV
10236	54.7	72	1.1	2.1%	2.9	5.3%	4.4	8.1%
10202	97.9	72	0.8	0.8%	4.5	4.6%	10.7	10.9%
10265	230.8	72	2.0	0.9%	13.4	5.8%	16.0	6.9%
10192	396.6	72	2.9	0.7%	34.7	8.8%	44.2	11.1%
10177	930.9	72	13.8	1.5%	98.0	10.5%	128.8	13.8%
10185	2126.5	72	13.9	0.7%	189.1	8.9%	204.3	9.6%

Přesnost/obnovení: 99.8-107.7%

Šest (6) extraktů vzorků stolice z klinických vzorků s hladinami elastázy v rozmezí 15,8 - 355,7 µg/g bylo obohaceno o 55 µg/g elastázy v kalibračním materiálu. Spikování bylo provedeno v množství 10 % objemu extraktu vzorku. "Základní" vzorky byly spikovány odpovídajícím množstvím extrakčního pufru. Vzorky "základní" a "základní + spike" byly měřeny ve čtyřech (4) opakováních.

Přenositelnost vzorku

Přenositelnost vzorku byla stanovena dle směrnice CLSI EP10-A2. U testu BÜHLMANN fPELA® turbo na přístroji Roche cobas® 6000 c501 nebyl zjištěn žádný statisticky významný přenos.

Limit blanku (LoB): 0.8 µg/g

LoB byl stanoven podle směrnice CLSI EP17-A2 za použití klasického přístupu a neparametrické analýzy.

Limit detekce (LoD): 2.3 µg/g

LoD byl stanoven podle směrnice CLSI EP17-A2 za použití klasického přístupu a parametrické analýzy.

Limit kvantifikace (LoQ): 5.7 µg/g

LoQ byl stanoven dle směrnice CLSI EP17-A2, na základě 60 stanovení a cíle přesnosti 20% CV.

Rozsah linearity: 3.4 to 5024.2 µg/g

Lineární rozsah BÜHLMANN fPELA[®] turbo byl stanoven podle směrnice CLSI EP06-A. Vzorky s koncentrací vyšší než 500 µg/g byly analyzátorem automaticky zředěny v poměru 1:10. Byla povolena maximální odchylka od linearity 10% nebo 10 µg/g, pro vzorky pod 100 µg/g.

Hook Efekt

Vzorky s koncentrací až 17'231 µg/g lze měřit bez omezení měřicího rozsahu testu. Zahrnutí prozonové kontroly rozšiřuje rozsah testování až na 18'891 µg/g.

Zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita testu BÜHLMANN fPELA[®] turbo s molekulami podobnými lidské elastáze byla hodnocena podle směrnice CLSI EP07-A2. Zkreslení výsledků přesahující 10% bylo považováno za interferenci.

Nebyla zjištěna žádná zkřížená reaktivita s následujícími molekulami: prasečí chymotrypsin nebo prasečí elastáza v koncentracích 1 µg/ml v extraktu vzorku stolice.

Interferující látky

Citlivost testu BÜHLMANN fPELA[®] turbo na perorální léčiva, doplňky stravy a hemoglobin byla hodnocena podle pokynů CLSI EP07-A2. Za interferenci byla považována odchylka výsledků přesahující 10%.

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami [koncentrace v mg²/50 mg stolice]: Prednisone (1.5), acetylcysteine (Fluimucil[®]) (1.8); lumacaftor/ivacaftor (Symdeko[®]) (0.8), metformin (3.0), glimepiride (Amaryl[®]) (6.0 µg), ciprofloxacin (Ciproxin[®]) (1.5), ibuprofen (2.4), multivitamin (Berocca[®]) (15 µg), pantoprazole (Nycomed[®]) (0.16), hemoglobin (12.5).

Interference byla zjištěna u následujících látek: pancreatin (Creon[®]) (800 U), lansoprazole (Agopton[®]) (0.18), esomeprazole (Esomeprazol-Mepha[®]) (0.16), omeprazole (Omeprazol-Mepha[®]) (0.12). Polynomiální fitování odchylky v závislosti na koncentraci interferentu ukázalo, že odchylka 20% je překročena u koncentrací vyšších než 252.5 U pro pancreatin, 0.0475 mg pro lansoprazole, 0.0875 mg pro esomeprazole a 0.095 mg pro omeprazole.

² Pokud není uvedeno jinak

REFERENCE

1. Vanga et al., 2018; Diagnostic Performance of Measurement of Fecal Elastase-1 in Detection of Exocrine Pancreatic Insufficiency – Systematic Review and Meta-analysis
2. Hahn et al., 2008, Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus
3. Creutzfeldt et al., 2005, Follow-Up of Exocrine Pancreatic Function in Type-1 Diabetes mellitus.

ZMĚNY

Datum	Verze	Změna
2022-07-20	A2	Aktualizace kapitol "upozornění a bezpečnostní opatření", "omezení", "porovnání metod" a "rušivé látky". Aktualizace stability extraktů pankreatické elastázy při -20 °C Revize kapitoly "symboly" Přidání čísla notifikovaného subjektu k označení CE - postup posuzování shody podle IVDR 2017/746

HLÁŠENÍ POTÍŽÍ V ČLENSKÝCH ZEMÍCH EU

Pokud se v souvislosti s tímto přístrojem vyskytne jakákoli závažná událost, neprodleně ji nahlase výrobcí a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

POŠKOZENÍ PŘI PŘEPRAVĚ

Informujte prosím svého distributora, pokud byl produkt dodán poškozený.

SYMBOLY

Společnost BÜHLMANN používá symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1.

